



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112513078 A

(43) 申请公布日 2021.03.16

(21) 申请号 201980050992.X

(22) 申请日 2019.07.30

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2018/097795 2018.07.31 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.01.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2019/098327 2019.07.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/024931 EN 2020.02.06

(71) 申请人 沈为群

地址 美国加利福尼亚州

申请人 谭向阳 刘建宁

(72) 发明人 沈为群 谭向阳 刘建宁

(74) 专利代理机构 上海巛石知识产权代理事务
所(普通合伙) 31309

代理人 张琤 蒋舫玮

(51) Int.Cl.

C07K 16/24 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

权利要求书4页 说明书21页
序列表21页 附图6页

(54) 发明名称

抗IL-17A抗体及其用途

(57) 摘要

本申请提供了一种抗体或其抗原结合片段，
其以高亲和力特异性结合IL-17A。本申请还提供了
制备和使用所述抗体的方法。

1. 一种抗体或其抗原结合片段,其结合IL-17A并表现出以下性质中的至少一种:
 - 1) 在Octet测试中,以 2×10^{-9} M或更小的 K_D 与IL-17A结合;
 - 2) 特异性结合IL-17A,并且基本上不结合IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E或IL-17F;
 - 3) 阻断IL-17A与IL-17R之间的相互作用;
 - 4) 体内中和IL-17A;
 - 5) 能够治疗自身免疫性疾病或病症。
2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体选自:单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体和双特异性抗体。
3. 根据权利要求1-2中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自:Fab片段、Fab'片段、F(ab)₂片段、Fv片段和ScFv。
4. 根据权利要求1-3中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段与参比抗体竞争结合IL-17A,其中所述参比抗体包含:
 - 1) 轻链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:4-6所示的氨基酸序列,以及重链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:1-3所示的氨基酸序列;
 - 2) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列;
 - 3) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;
 - 4) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;
 - 5) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;
 - 6) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;
 - 7) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;
 - 8) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;
 - 9) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;
 - 10) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;或者
 - 11) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。
5. 根据权利要求1-4中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含轻链或其片段。
6. 根据权利要求5所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段包含轻链CDR1,并且所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。
7. 根据权利要求5-6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段

包含轻链CDR2,并且所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。

8.根据权利要求5-7中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段包含轻链CDR3,并且所述轻链CDR3包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列。

9.根据权利要求5-8中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段包含轻链可变区,并且所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

10.根据权利要求5-9中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段包含轻链恒定区,并且所述轻链恒定区包含人Igκ恒定区。

11.根据权利要求5-10中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链或其片段包含选自SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列。

12.根据权利要求1-11中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含重链或其片段。

13.根据权利要求12所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含重链CDR1,并且所述重链CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列。

14.根据权利要求12-13中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含重链CDR2,并且所述重链CDR2包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列。

15.根据权利要求12-14中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含重链CDR3,并且所述重链CDR3包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。

16.根据权利要求12-15中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含重链可变区,并且所述重链可变区包含选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

17.根据权利要求12-16中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含重链恒定区,并且所述重链恒定区包含人IgG恒定区。

18.根据权利要求17的抗体或其抗原结合片段,其中所述人IgG恒定区包含IgG4恒定区。

19.根据权利要求12-18中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述重链或其片段包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

20.根据权利要求1-19中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述IL-17A选自:人IL-17A和猴IL-17A。

21.根据权利要求1-20中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其特异性结合人IL-17A和食蟹猴IL-17A。

22.根据权利要求1-21中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包含:

1)轻链CDR1-3,其分别包含SEQ ID NO:4-6所示的氨基酸序列,以及重链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:1-3所示的氨基酸序列;

2)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列;

3)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;

4) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;

5) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;

6) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;

7) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;

8) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;

9) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;

10) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;或,

11) 轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

23. 一种融合蛋白,其包含根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

24. 分离的一种或多种核酸分子,其编码根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,或根据权利要求23所述的融合蛋白。

25. 一种或多种载体,其包含根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子。

26. 一种细胞,其包含根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子或根据权利要求25所述的一种或多种载体。

27. 一种方法,其用于产生根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求23所述的融合蛋白,所述方法包括在使得能够表达根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求23所述的融合蛋白的条件下培养根据权利要求26所述的细胞。

28. 根据权利要求27所述的方法,所述方法任选地还包括收获所述抗体或其抗原结合片段或变体,或所述融合蛋白。

29. 一种组合物,其包含根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求23所述的融合蛋白、根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子、根据权利要求25所述的一种或多种载体和/或根据权利要求26所述的细胞,以及任选的药学上可接受的赋形剂。

30. 根据权利要求29所述的组合物,所述组合物还包含额外的免疫治疗活性成分。

31. 根据权利要求1-22中任一项的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求23所述的融合蛋白、根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子、根据权利要求25所述的一种或多种载体和/或根据权利要求26所述的细胞在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。

32. 根据权利要求31所述的用途,其中所述疾病或病症是自身免疫性疾病或病症。

33. 根据权利要求31-32中任一项所述的用途,其中所述疾病或病症包括银屑病和/或

类风湿性关节炎(RA)。

34. 根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,或根据权利要求23所述的融合蛋白在制备用于确定样品中IL-17A的存在和/或量的试剂中的用途。

35. 一种预防和/或治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,其包括向所述受试者施用有效量的根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求23所述的融合蛋白、根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子、根据权利要求25所述的一种或多种的载体和/或根据权利要求26所述的细胞,其中所述疾病或病症是与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。

36. 根据权利要求35所述的方法,其中所述疾病或病症是自身免疫性疾病或病症。

37. 根据权利要求35-36中任一项所述的方法,其中所述疾病或病症包括银屑病和/或类风湿性关节炎(RA)。

38. 一种用于确定样品中IL-17A的存在和/或量的方法,其包括:a) 将所述样品与根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求23所述的融合蛋白接触;以及b) 确定与所述样品结合的所述抗体、所述抗原结合片段或其变体、或所述融合蛋白存在和/或量。

39. 根据权利要求1-22中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求23所述的融合蛋白、根据权利要求24所述的分离的一种或多种核酸分子、根据权利要求25所述的一种或多种载体、或根据权利要求26所述的细胞,其用于a) 预防和/或治疗疾病或病症,和/或b) 确定样品中IL-17A的存在和/或量,其中所述疾病或病症是与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。

抗IL-17A抗体及其用途

背景技术

[0001] IL-17A(白细胞介素-17A)是由IL-17A基因编码的蛋白质。IL-17A蛋白是糖蛋白,其可与IL-17F蛋白形成二硫键连接的同二聚体或异二聚体。IL-17A是促炎细胞因子,其作用于多种细胞(例如,成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞和单核细胞),以诱导产生其它细胞因子,包括IL-6和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) (Eyerich等人,2010;Iwakura等人,2011)。

[0002] 以前的研究表明,IL-17A的激动性抗体可增强小鼠模型中T细胞的杀伤能力。然而,仍然强烈需要性能更好的IL-17A抗体。

发明内容

[0003] 本公开提供了一种抗体或其抗原结合片段,其能够结合IL-17A,并且可以表现出以下性质中的至少一种:1)对IL-17具有高亲和力;2)特异性结合IL-17A,并且基本上不结合IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E或IL-17F;3)阻断IL-17A与IL-17R(例如,IL-17RA结构域和/或IL-17RC结构域)之间的相互作用;4)体内中和IL-17A;5)能够治疗自身免疫性疾病或病症。另外,本公开还提供了制备并且/或者使用所述抗体或其抗原结合片段的方法。

[0004] 一方面,本公开提供了抗体或其抗原结合片段,其结合IL-17A并表现出以下性质中的至少一种:1)在Octet测试中,以 2×10^{-9} M或更小的 K_D 与IL-17A结合;2)特异性结合IL-17A,并且基本上不结合IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E或IL-17F;3)阻断IL-17A与IL-17R(诸如IL-17RA和/或IL-17RC)之间的相互作用;4)体内中和IL-17A;和5)能够治疗自身免疫性疾病或病症。

[0005] 在一些实施方案中,抗体选自:单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体和双特异性抗体。

[0006] 在一些实施方案中,抗原结合片段选自:Fab片段、Fab'片段、F(ab)₂片段、Fv片段和ScFv。

[0007] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段与参比抗体竞争。所述参比参比抗体包含:1)轻链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:4-6所示的氨基酸序列,以及重链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:1-3所示的氨基酸序列;2)轻链可变区,其包含如SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列;3)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;4)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;5)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;6)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含如SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;7)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;8)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;9)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;10)轻链可变区,其包含

SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;或11)轻链可变区,其包含如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

[0008] 在一些实施方案中,抗体包含轻链或其片段。轻链或其片段包含轻链CDR1,并且轻链CDR1包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链或其片段包含轻链CDR2,并且轻链CDR2包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链或其片段包含轻链CDR3,并且轻链CDR3包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列。

[0009] 在一些实施方案中,轻链或其片段包含轻链可变区,并且所述轻链可变区包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0010] 在一些实施方案中,轻链或其片段包含轻链恒定区,并且轻链恒定区包含人Igκ恒定区。

[0011] 在一些实施方案中,轻链或其片段包含选自SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0012] 在一些实施方案中,抗体包含重链或其片段。重链或其片段包含重链CDR1,并且重链CDR1包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链或其片段包含重链CDR2,并且重链CDR2包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链或其片段包含重链CDR3,并且重链CDR3包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。

[0013] 在一些实施方案中,重链或其片段包含重链可变区,并且重链可变区包含选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0014] 在一些实施方案中,重链或其片段包含重链恒定区,并且重链恒定区包含人IgG恒定区。在一些实施方案中,人IgG恒定区包含IgG4恒定区。

[0015] 在一些实施方案中,重链或其片段包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0016] 在一些实施方案中,IL-17A选自:人IL-17A、小鼠IL-17A和猴IL-17A(诸如食蟹猴IL-17A)。

[0017] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段结合人IL-17A和食蟹猴IL-17A,但基本上不结合小鼠IL-17A。

[0018] 在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含:1)轻链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:4-6所示的氨基酸序列,以及重链CDR 1-3,其分别包含SEQ ID NO:1-3所示的氨基酸序列;2)轻链可变区,其包含如SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列;3)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;4)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;5)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列;6)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;7)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;8)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列;9)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ

ID NO:18所示的氨基酸序列;10)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列;或11)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,以及重链可变区,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0019] 另一方面,本公开提供了包含根据本公开的抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。

[0020] 另一方面,本公开提供了分离的一种或多种核酸分子,其编码根据本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白。

[0021] 另一方面,本公开提供了一种或多种载体,其包含根据本公开的分离的一种或多种核酸分子。

[0022] 另一方面,本公开提供了细胞,其包含根据本公开的分离的一种或多种核酸分子,或一种或多种载体。

[0023] 另一方面,本公开提供了产生根据本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的方法,其包括在使得能够表达抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的条件下培养本公开的细胞。在一些实施方案中,所述方法任选地还包括收获所述抗体或其抗原结合片段或所述融合蛋白。

[0024] 另一方面,本公开提供了组合物,其包含根据本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞,以及任选的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,组合物还包含额外的治疗活性成分。

[0025] 另一方面,本公开提供了根据本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。所述疾病或病症可以是自身免疫性疾病或病症。例如,疾病或病症可包括银屑病和/或关节炎(例如,类风湿性关节炎(RA))。另一方面,本公开提供了根据本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白在制备用于确定样品中IL-17A的存在和/或量的试剂中的用途。

[0026] 另一方面,本公开提供了预防和/或治疗有此需要的受试者的疾病或病症的方法,其包括向所述受试者施用有效量的根据本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞,其中所述疾病或病症是与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。所述疾病或病症可以是自身免疫性疾病或病症。例如,疾病或病症可包括银屑病和/或关节炎(例如,类风湿性关节炎(RA))。

[0027] 另一方面,本公开提供了一种用于确定样品中IL-17A的存在和/或量的方法,其包括:a)将所述样品与根据本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白接触;以及b)确定与所述样品结合的所述抗体、其抗原结合片段或所述融合蛋白的存在和/或量。

[0028] 另一方面,本公开提供了根据本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体或细胞,用于a)预防和/或治疗疾病或病症,并且/或者e)确定样品中IL-17A的存在和/或量,其中所述疾病或病症是与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。所述疾病或病症可以是自身免疫性疾病或病症。例如,所述疾病或病症可包括银屑病和/或关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))。

[0029] 根据以下详细描述中,本公开的其它方面和有利方面对于本领域技术人员将变得显而易见,其中仅显示和描述了本公开的说明性实施方案。如将认识到的,本公开能够具有其它不同的实施方案,并且其几个细节能够在各种明显的方面进行修改,所有这些都不脱

离本公开。因此,附图和描述在本质上被认为是说明性的,而不是限制性的。

[0030] 通过引用并入

[0031] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,如同每个单独的出版物、专利或专利申请都被具体和单独地指出通过引用结合于此。其程度就如同每个单独出版物、专利或专利申请具体地和单独地表示为通过引用并入。

附图说明

[0032] 在所附权利要求中具体阐述了本发明的新颖特征。通过参考以下阐述了使用本发明的原理的说明性实施方案的详细描述和附图(在本文中也称为“图(figure)”和“图(FIG)”),将获得对本发明的特征和优点的更好理解,其中:

[0033] 图1显示了本公开的抗体的VH和VL的氨基酸序列比对。

[0034] 图2显示了如通过Octet测得的本公开的抗体的结合亲和力。

[0035] 图3显示了如在ELISA中测得的本公开的抗体的结合亲和力。

[0036] 图4显示了如在ELISA中测得的本公开的抗体的结合亲和力。

[0037] 图5显示了抗体在体内中和人IL-17a。

[0038] 图6显示了抗体减轻了猴子的关节炎症状。

具体实施方式

[0039] 虽然本文已经显示和描述了本发明的各种实施方案,但对于本领域技术人员来说,显然此类实施方案仅仅是作为实例提供的。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员可以想到许多变化、改变和替换。应当理解,可采用本文所述的本发明实施例的各种替代方案。

[0040] 如本文中所用,术语“抗体”通常指能够特异性识别或结合抗原的免疫球蛋白或免疫球蛋白样分子。抗体可包含轻链(L)和重链(H)。抗体的轻链可以分为 κ 和 λ 轻链。重链可分为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ,抗体的同种型分别定义为IgM、IgD、IgG(例如,IgG 1、IgG2、IgG3或IgG4亚型)、IgA和IgE。每个重链可包含重链可变区(VH)和重链恒定区(CH)。重链恒定区可包含三个结构域(CH1、CH2和CH3)。每条轻链可包括轻链可变区(VL)和轻链恒定区(C1)。轻链恒定区可以包括CL结构域。VH和VL区还可细分为称为互补决定区(CDR)的高度变异的区域,其散布在更保守的称为框架区(FR)的区域之间。每个VH和VL由3个CDR和4个FR组成,从N端到C端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。每条重/轻链对的可变区(VH和VL)分别形成抗体结合部位。氨基酸向区域或结构域的分布遵循Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1987和1991)),或Chothia&Lesk(1987) J.Mol.Biol.196:901-917;Chothia等人(1989) Nature 342:878-883的定义。术语“抗体”不受任何抗体产生方法的限制。例如,其包括重组抗体、单克隆抗体和其它形式的抗体。在一些情况下,本公开的抗体是分离的抗体。

[0041] 如本文中所用,术语“抗原结合片段”通常是指全长抗体的一个或多个片段,所述片段保持与抗体结合的相同抗原(例如IL17)结合的能力和/或与完整抗体竞争抗原特异性结合。抗原结合片段可通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学切割来产生。在一些情况下,抗原结合部位包括Fab、Fab'、F(ab')₂、F(ab)₂、Fd、Fv、dAb和互补决定区(CDR)片段、

单链抗体(例如,ScFv)、嵌合抗体、双链抗体(diabody)和多肽,其包含足以赋予多肽特异性抗原结合能力的抗体的至少一部分。

[0042] 如本文中所用,术语“IL-17A”通常指IL-17A,一种由IL-17A基因编码的蛋白质。IL-17A蛋白是糖蛋白,其可与IL-17F蛋白形成二硫键连接的同二聚体或异二聚体。IL-17蛋白家族的成员可在每个单体上含有四个高度保守的半胱氨酸残基(Kolls和Lindén,2004;Iwakura等人,2011)。IL-17A不仅可以由CD4+T细胞(Th17细胞)(其还可产生IL-17F、IL-21和IL-22(Korn等人,2009;Kurebayashi等人,2013年))分泌,还可由CD8+T细胞(Tc17细胞)、 γ δ T细胞、恒定型天然杀伤T细胞(iNKT细胞)、包括淋巴组织诱导细胞(LTi细胞)的先天性淋巴样细胞(ILC)、B细胞、中性粒细胞和其它非造血细胞在内(Cua和Tato,2010年)分泌。在本公开中,“IL-17A”可包括人IL-17A、小鼠IL-17A和/或猴IL-17A。在本公开中,IL-17A还可包含人IL-17A、小鼠IL-17A和/或猴IL-17A的变体或片段。

[0043] 如本文中所用,术语“IL-17R”通常指IL-17受体,其可以是能够结合IL-17A的受体。IL-17R可以是至少由IL17-RA和IL-17RC组成的异聚体复合物。

[0044] 如本文中所用,术语“自身免疫性疾病或病症”通常是指当身体的免疫系统错误地攻击和破坏健康的身体组织时发生的疾病或病症。

[0045] 如本文中所用,术语“银屑病”通常是指加速皮肤细胞的生命周期的免疫介导的皮肤病。

[0046] 如本文中所用,术语“类风湿性关节炎(RA)”通常指导致关节和周围组织炎症的疾病。类风湿性关节炎(RA)的症状可能包括关节僵硬、疼痛、肿胀或变形。

[0047] 如本文中所用,术语“结合特异性”通常是指一种物质特异性结合另一种物质,并且基本上不随机结合任何其它物质的能力。例如,一种蛋白质可能由于其特定的结构而与另一种蛋白质特异性结合。结合特异性可通过例如交叉竞争测定或本领域已知的其它结合测定来测量。

[0048] 如本文中所用,术语“基本上不结合”通常是指很少或几乎不结合特定物质。例如,非常少或几乎没有(例如,少于10%、少于9%、少于8%、少于7%、少于6%、少于5%、少于4%、少于3%、少于2%、少于1%、少于0.5%、少于0.1%或少于0.01%)本公开的抗体或其抗原结合片段可以结合IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E或IL-17F。

[0049] 如本文中所用,术语“ K_D ”通常是指解离常数,一种测量较大物体可逆地分离(解离)成较小成分的倾向(如当复合物分解成其组分分子时)的特定类型的平衡常数。解离常数是缔合常数的倒数。在抗体(Ab)结合抗原(Ag)的特定情况下,通常术语亲和常数是缔合常数。

[0050] 如本文中所用,术语“单克隆抗体”通常是指由相同的免疫细胞产生的抗体,所述免疫细胞都是唯一亲本细胞的克隆。单克隆抗体可具有单价亲和力,因为它们与相同的表位(抗原被抗体识别的部分)结合。其已成为生物化学、分子生物学和医学的重要工具。近年来发展了若干种单克隆抗体技术,诸如噬菌体展示、单B细胞培养、不同B细胞群体的单细胞扩增和单浆细胞询问技术。

[0051] 如本文中所用,术语“嵌合抗体”通常是指其中轻链和重链的可变(V)区源自小鼠,而恒定(C)区源自人的抗体。一般来说,嵌合抗体可以保留原始小鼠单克隆抗体的特异性和亲和力,但HAMA反应可能会显著降低。

[0052] 如本文中所用,术语“人源化抗体”通常指来自非人物种的抗体,其蛋白质序列已被修饰以增加其与天然产生的抗体变体的相似性。人源化抗体的氨基酸序列可以与人变体的氨基酸序列基本相同,尽管其互补决定区(CDR)区段的某些部分的非人来源导致抗体与其靶抗原结合的能力。

[0053] 如本文中所用,术语“全人源抗体”通常是指具有完全人氨基酸序列来源的抗体区域疗法的抗体,其中通过使用遗传修饰的小鼠或通过结合筛选的抗体工程方法在体内选择了抗原特异性。

[0054] 如本文中所用,术语“双特异性抗体”通常指能够同时结合两种不同类型的抗原的人工蛋白质。制造方法的主要类型有四源杂交瘤(quadromas)、化学缀合和基因重组。除两个Fab部位结合不同的抗原外,IgG样形式保留了两个Fab臂和一个Fc区的常规单克隆抗体(mAb)结构。每个重链和轻链对来自独特的单克隆抗体。由两条重链组成的Fc区形成第三个结合部位。非IgG样形式包括仅由Fab区组成的化学连接的Fab,以及各种类型的二价和三价单链可变片段(ScFv)。还有模拟两种抗体的可变结构域的融合蛋白。

[0055] 如本文中所用,术语“Fab片段”通常指免疫球蛋白分子的一部分(诸如抗原结合片段)。Fab片段可包含具有单个抗原结合部位的一条轻链和重链的一部分。Fab片段可通过木瓜蛋白酶消化免疫球蛋白分子获得。例如,Fab片段可由重链和轻链各自的一个恒定结构域和一个可变结构域组成。可变结构域可在免疫球蛋白分子的氨基末端含有包含一组互补决定区的互补位(抗原结合部位)。木瓜蛋白酶可用于将免疫球蛋白分子切割成两个Fab片段和一个Fc片段。胃蛋白酶在铰链区下方切割,因此形成 $F(ab')_2$ 片段和 pFc' 片段。 $F(ab)_2$ 或 $F(ab')_2$ 片段具有两个由二硫键连接的抗原结合区。 $F(ab)_2$ 或 $F(ab')_2$ 片段的还原产生2个单价Fab或Fab'片段,它们具有游离巯基,可用于与其它分子缀合。

[0056] 如本文中所用,术语“Fv片段”通常是指由IgG和IgM类抗体的酶促裂解制成的最小片段。Fv片段具有由VH和VL区域组成的抗原结合部位,但它们缺少CH1和CL区域。VH和VL链可通过非共价相互作用保持在Fv片段中。

[0057] 如本文中所用,术语“ScFv”通常指单链抗体片段。ScFv可以是重组单链多肽分子,其中抗体的轻链和重链可变区直接连接或通过肽接头连接。单链抗体(ScFv)通常不包括抗体的Fc区的部分,尽管需要时,已知有方法将此类区域添加到已知的ScFv分子中。参见 Helfrich等人,A rapid and versatile method for harnessing ScFv antibody fragments with various biological functions.J Immunol Methods 237:131-145 (2000) and de Haard et al.,Creating and engineering human antibodies for immunotherapy.Advanced Drug Delivery Reviews 31:5-31(1998)。

[0058] 如本文中所用,术语“融合蛋白”通常是指包含与异源多肽(即,来源、序列或结构不同的多肽)的氨基酸序列直接或间接(例如通过接头)融合的多肽的氨基酸序列,或可选地由所述多肽的氨基酸序列组成的肽。

[0059] 如本文中所用,术语“分离的一种或多种核酸分子”通常是指从其天然环境中分离出来的,或者为人工合成的具有何长度的核苷酸(脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸,或其类似物)的聚合形式。

[0060] 如本文中所用,术语“一种或多种载体”通常是指可在其中插入并表达编码蛋白质的多核苷酸的核酸媒介物。载体中携带的遗传物质成分可通过用载体转化、转导或转染宿

主细胞而在宿主细胞中表达。载体的实施方案包括：质粒；噬菌粒；cosmos；诸如酵母人工染色体 (YAC)、细菌人工染色体 (BAC) 或P1衍生的人工染色体 (PAC) 等的人工染色体；诸如 λ 噬菌体或M13噬菌体等的噬菌体和动物病毒。载体可包含多种控制表达的元件，包括启动子序列、转录起始序列、增强子序列、选择元件和报告基因。另外，载体还可包含复制起点。载体还可能包括有助于其进入细胞的组分，诸如病毒颗粒、脂质体或蛋白质壳，但不仅仅包括这些物质。

[0061] 如本文中所用，术语“细胞”通常是指可用于携带本公开的一种或多种载体，或用于表达或产生本公开的抗体、抗原结合片段的细胞。本公开的细胞可以是宿主细胞。细胞可以是诸如大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 等原核细胞、诸如酵母细胞或曲霉细胞等真菌细胞、诸如S2果蝇细胞或Sf9等昆虫细胞，或诸如CHO细胞、COS细胞、NS0细胞等另一种细胞或其它适合抗体表达的细胞。

[0062] 如本文中所用，术语“使得能够表达的条件”通常指使得能够表达本公开的抗体或其抗原结合片段的条件。在一些实施方案中，此类条件可包括但不限于孵育时间、温度和培养基，并且可以取决于细胞类型，并且可由熟练技术人员来容易地确定。

[0063] 术语“疾病”和“病症”在本文中可互换使用，通常指损害身体正常功能的任何疾患。疾病通常被解释为与特定症状和体征相关联的医学状况。其可由外部因素诸如病原体或由内部机能障碍，特别是免疫系统的机能障碍，诸如免疫缺陷，或由超敏反应，包括变态反应和自身免疫引起。例如，疾病或病症可与IL-17A的不适当表达或功能相关联。例如，疾病或病症可以是自身免疫性疾病，诸如银屑病和/或关节炎（例如，类风湿性关节炎 (RA)）。

[0064] 如本文中所用，术语“有效量”通常是指足以提供足够高的浓度以对其接受者产生有益效果的剂量。任何特定受试者的特定治疗有效剂量水平将取决于多种因素，包括所治疗的疾病或病症、疾病或病症的严重程度、特定组分的活性、施用途径、清除率、治疗持续时间、受试者的年龄、体重、性别、饮食和一般健康状况以及其它相关因素。

[0065] 如本文中所用，术语“药学上可接受的赋形剂”通常指与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、等渗剂和吸收延迟剂等。

[0066] 如本文中所用，术语“炎症反应”通常是指受试者（例如，人或非人动物）对外部或内部刺激（诸如病原体、受损细胞或刺激物）的生物反应，并且是至少涉及免疫细胞的保护性反应。炎症的体征可包括发热、疼痛、发红、肿胀和功能丧失。炎症可分为急性或慢性的。急性炎症是身体对刺激的最初反应，可通过血浆和白细胞的运动增加来实现。慢性炎症可导致炎症部位存在的细胞类型（诸如单核细胞）的进行性转变，其特征可在于炎症过程中组织的同时破坏和愈合。

[0067] 如本文中所用，术语“约”通常是指基于本领域普通技术人员合理推断的给定值的近似值，包括由于该给定值的实验和/或测量条件而产生的等同值和近似值。例如，其可以指比该术语所修改的值高或低不超过10%的值。例如，术语“约5 μ g/kg”是指4.5 μ g/kg至5.5 μ g/kg的范围。作为另一个实例，“约1小时”意指52分钟至66分钟的范围。

[0068] IL-17A抗体及其抗原结合片段

[0069] 一方面，本公开提供了特异性结合IL-17A的抗体或其抗原结合片段。

[0070] 抗体或其抗原结合片段可以以如通过Octet所测得的 2×10^{-9} M或更小的 K_D ，例如以 1.5×10^{-9} M或更小、 1×10^{-9} M或更小、 9×10^{-10} M或更小、 8×10^{-10} M或更小、 7×10^{-10} M或更小、 6

$\times 10^{-10}$ M或更小、 5×10^{-10} M或更小、 4×10^{-10} M或更小、 3.5×10^{-10} M或更小、 3×10^{-10} M或更小、 2×10^{-10} M或更小、 1×10^{-10} M或更小、 1×10^{-11} M或更小或者 1×10^{-12} M或更小的 K_D 结合IL-17A。

[0071] 抗体或其抗原结合片段可以特异性结合IL-17A,并且基本上不结合IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E或IL-17F。

[0072] 抗体或其抗原结合片段可以阻断IL-17A与IL-17R之间的相互作用。例如,抗体或其抗原结合片段可以阻断人IL-17A与人IL-17RA和/或人IL-17RC之间的相互作用。

[0073] 抗体或其抗原结合片段可以结合人IL-17A和食蟹猴IL-17A。在一些情况下,抗体或其抗原结合片段基本上不与小鼠IL-17A结合。

[0074] 例如,IL-17A可以是人IL-17A,并且可以在UniProtKB数据库中用登录号Q16552进行标识,或者可以是其变体,例如,与其至具有少80% (例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高)的序列同一性。

[0075] 当向受试者体内施用,抗体或其抗原结合片段可以消除炎症反应。

[0076] 抗体或其抗原结合片段可在体内中和IL-17A。例如,抗体或其抗原结合片段可使血浆中IL-17A诱导的KC分泌减少至少约40% (例如,至少约40%,至少约50%,至少约60%,至少约70%,至少约80%,至少约90%或更高),如在ELISA中所测得的。

[0077] 本公开的抗体可以是单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、完全人抗体或双特异性抗体。抗原片段可选自Fab片段、Fab' 片段、F(ab)₂片段、Fv片段和ScFv。

[0078] 在本公开中,抗体或其抗原结合片段可与参比抗体竞争结合IL-17A。

[0079] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链CDR1-3和重链CDR1-3,轻链CDR1可包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,轻链CDR2可包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,轻链CDR3可包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列,重链CDR1可包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,重链CDR2可包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,以及重链CDR3可包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。

[0080] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列。

[0081] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0082] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0083] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0084] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

[0085] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含

SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

[0086] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

[0087] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

[0088] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

[0089] 在一些情况下,所述参比抗体包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列。

[0090] 在本公开中,抗体或其抗原结合片段可包含重链或其片段。

[0091] 例如,重链或其片段可以包含重链CDR1,并且重链CDR1可包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列。重链或其片段可包含重链CDR2,并且重链CDR2可包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列。重链或其片段可包含重链CDR3,并且所述重链CDR3包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。

[0092] 又例如,重链或其片段可包含重链可变区(VH),并且重链可变区包含选自SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0093] 重链或其片段可包含重链恒定区。重链恒定区可包含人IgG恒定区。在一些情况下,重链恒定区可包含人IgG1恒定区、人IgG2恒定区、人IgG3恒定区或人IgG4恒定区。例如,重链恒定区可以是IgG4恒定区。

[0094] 在一些情况下,重链或其片段可以包含选自SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0095] 在本公开中,抗体或其抗原结合片段可包含轻链或其片段。

[0096] 例如,轻链或其片段可包含轻链CDR1,并且轻链CDR1可包含如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。轻链或其片段可包含轻链CDR2,并且轻链CDR2可包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。轻链或其片段可包含轻链CDR3,并且轻链CDR3包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列。

[0097] 此外,轻链或其片段可包含轻链可变区(VL),并且轻链可变区包含选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0098] 轻链或其片段可以包含轻链恒定区。轻链恒定区可包含人Igκ恒定区或人Igλ恒定区。例如,轻链恒定区可包含人Igκ恒定区。

[0099] 在一些情况下,轻链或其片段可包含选自SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[0100] 在本公开中,抗体或其抗原结合片段可包含轻链CDR1-3和重链CDR1-3,轻链CDR1可包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,轻链CDR2可包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,

轻链CDR3可包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列,重链CDR1可包含SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,重链CDR2可包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,以及重链CDR3可包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列。

[0101] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:7所示的氨基酸序列。

[0102] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0103] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0104] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列。

[0105] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

[0106] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列。

[0107] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0108] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0109] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含如SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0110] 在一些情况下,抗体或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,轻链可变区可包含如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,并且重链可变区可包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0111] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10759-PP10768的LCDR1-3和HCDR1-3相同的LCDR1-3和HCDR1-3。抗体PP10759-PP10768的LCDR1-3分别是如SEQ ID NO:4-6所示的,并且抗体PP10759-PP10768的HCDR1-3是如SEQ ID NO:1-3所示的。

[0112] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10759的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10759的轻链可变区是如SEQ ID NO:8所示的,并且抗体PP10759的重链可变区是如SEQ ID NO:7所示的。

[0113] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10760的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10760的轻链可变区是如SEQ ID NO: 21所示的,并且抗体PP10760的重链可变区是如SEQ ID NO:12所示的。

[0114] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10761的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10761的轻链可变区是如SEQ ID NO: 24所示的,并且抗体PP10761的重链可变区是如SEQ ID NO:12所示的。

[0115] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10762的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10762的轻链可变区是如SEQ ID NO: 27所示的,并且抗体PP10762的重链可变区是如SEQ ID NO:12所示的。

[0116] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10763的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10763的轻链可变区是如SEQ ID NO: 21所示的,并且抗体PP10763的重链可变区是如SEQ ID NO:15所示的。

[0117] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10764的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10764的轻链可变区是如SEQ ID NO: 24所示的,并且抗体PP10764的重链可变区是如SEQ ID NO:15所示的。

[0118] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10765的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10765的轻链可变区是如SEQ ID NO: 27所示的,并且抗体PP10765的重链可变区是如SEQ ID NO:15所示的。

[0119] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10766的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10766的轻链可变区是如SEQ ID NO: 21所示的,并且抗体PP10766的重链可变区是如SEQ ID NO:18所示的。

[0120] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10767的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10767的轻链可变区是如SEQ ID NO: 24所示的,并且抗体PP10767的重链可变区是如SEQ ID NO:18所示的。

[0121] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10768的轻链可变区和重链可变区相同的轻链可变区和重链可变区。抗体PP10768的轻链可变区是如SEQ ID NO: 27所示的,并且抗体PP10768的重链可变区是如SEQ ID NO:18所示的。

[0122] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10759的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10759的轻链是如SEQ ID NO:10所示的,并且抗体PP10759的重链是如SEQ ID NO:9所示的。

[0123] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10760的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10760的轻链是如SEQ ID NO:20所示的,并且抗体PP10760的重链是如SEQ ID NO:11所示的。

[0124] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10761的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10761的轻链是如SEQ ID NO:23所示的,并且抗体PP10761的重链是如SEQ ID NO:11所示的。

[0125] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10762的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10762的轻链是如SEQ ID NO:26所示的,并且抗体PP10762的重链是如SEQ ID NO:11所示的。

[0126] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10763的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10763的轻链是如SEQ ID NO:20所示的,并且抗体PP10763的重链是如SEQ ID NO:14所示的。

[0127] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10764的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10764的轻链是如SEQ ID NO:23所示的,并且抗体PP10764的重链是如SEQ ID NO:14所示的。

[0128] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10765的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10765的轻链是如SEQ ID NO:26所示的,并且抗体PP10765的重链是如SEQ ID NO:14所示的。

[0129] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10766的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10766的轻链是如SEQ ID NO:20所示的,并且抗体PP10766的重链是如SEQ ID NO:17所示的。

[0130] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10767的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10767的轻链是如SEQ ID NO:23所示的,并且抗体PP10767的重链是如SEQ ID NO:17所示的。

[0131] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10768的轻链和重链相同的轻链和重链。抗体PP10768的轻链是如SEQ ID NO:26所示的,并且抗体PP10768的重链是如SEQ ID NO:17所示的。

[0132] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10760的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10760的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:22所示的,并且编码抗体PP10760的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:13所示的。

[0133] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10761的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10761的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:25所示的,并且编码抗体PP10761的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:13所示的。

[0134] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10762的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10762的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:28所示的,并且编码抗体PP10762的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:13所示的。

[0135] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10763的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10763的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:22所示的,并且编码抗体PP10763的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:16所示的。

[0136] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10764的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10764的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:25所示的,并且编码抗体PP10764的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:16所示的。

[0137] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10765的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10765的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:28所示的,并且编码抗体PP10765的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:16所示的。

[0138] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10766的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10766的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:22所示的,并且编码抗体PP10766的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:19所示的。

[0139] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10767的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10767的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:25所示的,并且编码抗体PP10767的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:19所示的。

[0140] 作为另一个实例,抗体或其抗原结合片段可包含与抗体PP10768的轻链和重链相同的轻链和重链。编码抗体PP10768的轻链的核苷酸是如SEQ ID NO:28所示的,并且编码抗体PP10768的重链的核苷酸是如SEQ ID NO:19所示的。

[0141] 在一些实施方案中,根据本公开的抗体选自:PP10759、PP10760、PP10761、PP10762、PP10763、PP10764、PP10765、PP10766、PP10767和PP10768。

[0142] 另一方面,本公开提供了包含根据本公开的抗体或其抗原结合片段的融合蛋白。例如,融合蛋白可包含一种或多种附加组分,诸如其它药物活性组分。附加组分可以直接或间接(例如,通过接头,诸如肽接头)与根据本公开的抗体或其抗原结合片段融合。融合蛋白仍可具有根据本公开的抗体或其抗原结合片段的至少一些性质。

[0143] 抗体或抗原结合片段还可涵盖与其具有基本相同的功能/性质的其同源物或变体。在一些情况下,同源物或变体可以是不同于所述抗体或其抗原结合片段的至少一个氨基酸的多肽。例如,同源物或变体可以是与所述抗体或其抗原结合片段相异在于一个或多个氨基酸(诸如1-50个、1-40个、1-30个、1-20个、1-15个、1-14个、1-13个、1-12个、1-11个、1-10个、1-9个、1-8个、1-7个、1-6个、1-5个、1-4个、1-3个或1-2个氨基酸)的添加、缺失或取代的多肽。在一些情况下,同源物或变体可以是具有与所述抗体或其抗原结合片段具有至少80%同一性的序列的多肽。例如,同源物或变体可以是与所述抗体或其抗原结合片段具有80%(例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更高)的序列同一性的多肽。

[0144] 如在本文中所鉴定的多肽序列的上下文中所用的,术语“百分比(%)序列同一性”通常是指在比对序列和引入缺口(如果需要)以获得最大百分比的序列同一性并且不考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分后,查询序列中与第二参考多肽序列或其部分的氨基酸残基或核苷酸相同的氨基酸残基或核苷酸的百分比。以确定氨基酸/核苷酸序列同一性百分比为目的的比对可以以本领域技术人员已知的各种方式实现,例如,使用公开可用的计算机软件诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、NEEK或Malign (DNASTAR) 软件来实现。本领域技术人员可以确定用于测量比对的合适参数,包括在被比较序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。同一性百分比可以在整个确定的多肽/多核苷酸序列的长度上测量,或者可以在较短的长度上测量,例如,在取自更大的确定的多肽/多核苷酸序列的片段的长度上测量。应当理解,在表、图或序列表中,由本文所示序列支持的任何片段长度可用于描述可测量百分比同一性的长度。

[0145] 核酸、载体、细胞和制备方法

[0146] 另一方面,本公开提供了编码抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的分离的核酸或分子。

[0147] 分离的核酸可包含一个或多个核酸分子,每个核酸分子编码本公开的抗体或其抗原结合片段。例如,分离的核酸可包含至少两种核酸分子,一种编码抗体重链或其片段,一种编码抗体轻链或其片段。在一些情况下,分离的核酸可以编码融合蛋白。

[0148] 分离的一种或多种核酸可使用本领域公知的重组技术来合成。例如,分离的一种

或多种核酸可用自动DNA合成器合成。标准重组DNA和分子克隆技术包括由Sambrook, J., Fritsch, E.F.和Maniatis, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, (1989) (Maniatis) and by T. J. Silhavy, M. L. Bannan和由L. W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1984) 和Ausubel, F.M.等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, pub. by Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience (1987) 描述的那些。简言之, 主题核酸可从基因组DNA片段、cDNA和RNA制备, 所有这些都可以直接从细胞中提取或通过各种扩增过程 (包括但不限于PCR和RT-PCR) 重组产生。

[0149] 核酸的直接化学合成通常包括将3' -封闭和5' -封闭的核苷酸单体顺序添加到正在生长的核苷酸聚合物链的末端5' -羟基, 其中每次添加都通过生长链的末端5' -羟基对添加的单体的3' -位置的亲核攻击来实现, 所述单体通常是磷衍生物, 诸如磷酸三酯、亚磷酸酯等。参见, 例如Matteucci等人, *Tet. Lett.* 521:719 (1980); 属于Caruthers等人的美国专利第4,500,707号; 以及属于Southern等人的美国专利第5,436,327号和第5,700,637号。

[0150] 另一方面, 本公开提供了一种或多种载体, 其包括分离的一种或多种核酸分子。

[0151] 载体可以是任何线性核酸、质粒、噬菌粒、粘粒、RNA载体、病毒载体等。病毒载体的非限制性实例可包括逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒。在一些实施方案中, 载体是表达载体, 例如噬菌体展示载体。

[0152] 表达载体可能适用于特定类型的宿主细胞, 而不适用于其它类型的宿主细胞。例如, 可将表达载体引入宿主生物, 然后监测其活力和载体中包含的任何基因/多核苷酸的表达。

[0153] 表达载体还可包含一个或多个选择标记基因, 所述选择标记基因在表达时赋予一个或多个用于选择或以其它方式鉴定携带表达载体的宿主细胞的表型特征。用于真核细胞的合适的选择标记的非限制性实例包括二氢叶酸还原酶和新霉素抗性。

[0154] 可通过各种已建立的技术将主题载体稳定地或瞬时地引入宿主细胞。例如, 一种方法涉及其中通过钙沉淀引入表达载体的氯化钙处理。其它盐, 例如磷酸钙, 也可以按照类似的程序使用。另外, 可使用电穿孔 (即, 施加电流以增加细胞对核酸的通透性)。转化方法的其它实例包括显微注射、DEAE葡聚糖介导的转化和在乙酸锂存在下的热休克。脂质复合物、脂质体和树状聚合物也可用于转染宿主细胞。

[0155] 另一方面, 本公开提供了细胞 (例如, 分离的细胞, 诸如宿主细胞), 其包含本公开的分离的一种或多种核酸分子或本公开的一种或多种载体。

[0156] 所述细胞可表达本公开的抗体或其抗原结合片段, 或本公开的融合蛋白。所述细胞可以是真核细胞或原核细胞。可用本公开的一种或多种核酸或一种或多种载体转化或转染合适的细胞, 并将所述细胞用于抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的表达和/或分泌。例如, 所述细胞可以是大肠杆菌细胞、其它细菌宿主细胞、酵母细胞或各种高等真核细胞。

[0157] 另一方面, 本公开提供了产生本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白的方法, 其包括在使得能够表达抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的条件下培养本公开的细胞。

[0158] 所述方法任选地还可包括收获本公开的抗体或其抗原结合片段, 或融合蛋白。

[0159] 组合物

[0160] 另一方面,本公开提供了组合物,其包含本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞,以及任选的药学上可接受的赋形剂。

[0161] 在一些实施方案中,所述组合物还包含有效量的附加治疗活性组分,例如,用于治疗与IL-17A的不适当表达或功能相关联的疾病或病症的附加治疗活性组分。每种活性组分可以以药物活性量存在于药物组合物中。在组合物中,本申请的抗体、其片段可以与附加活性组分相关联或可以与其无相关联。

[0162] 下文描述了非限制性示例性药物组合物及其制备方法。所述药物组合物可以例如呈如片剂、胶囊剂、丸剂、粉剂、缓释制剂、溶液、悬浮液等适于口服施用的形式,如无菌溶液、悬浮液或乳液等适于胃肠外注射的形式,如软膏或乳膏等适于局部施用的形式,或者如栓剂等适于直肠施用的形式。药物组合物可呈适于精确剂量的单次施用的单位剂型。在一些实施方案中,药物组合物可以是液体药物组合物。

[0163] 本公开的药物组合物可以以离散的剂型存在,其中每个剂量含有预定量的活性成分,所述活性成分以粉末形式存在或存在于颗粒、溶液或者水性或非水性液体中的悬浮液中。此类剂型可通过技术人员已知的任何方法制备,例如,其可包括将活性成分与载体结合的步骤,所述载体构成一种或多种其它成分。通常,通过将活性成分与液体载体或细粉状固体载体或两者均匀而紧密地混合,然后,如果需要,将所述产品塑形为所需的外观来制备所述组合物。

[0164] 可按照常规药物配制技术将本公开的抗体、其抗原结合片段或融合蛋白与药物载体组合在紧密的混合物中。根据施用所需的制剂形式,载体可以采取多种形式。

[0165] 所述组合物还可包含一种或多种药学上可接受的添加剂和赋形剂。此类添加剂和赋形剂包括但不限于防粘剂、消泡剂、缓冲剂、聚合物、抗氧化剂、防腐剂、螯合剂、粘度调节剂、调渗剂(tonicifier)、调味剂、着色剂、加臭剂(odorant)、遮光剂、助悬剂、粘合剂、填充剂、增塑剂、润滑剂和/或其混合物。

[0166] 本公开的药物组合物可包含治疗有效量的活性剂(例如,本公开的抗体、其抗原结合片段或融合蛋白)。治疗有效量是能够预防并且/或者治愈(至少部分)患有所述疾患或病症或有发展所述疾患或病症的风险的受试者的疾患或病症(例如,自身免疫性疾病)和/或其任何并发症的主题药物组合物的量。所包含的活性剂的具体量/浓度可以根据施用方法和患者的需要而变化,并且可以基于例如体积、粘度和/或患者的体重等来确定。例如,合适的剂量可以是约0.1mg/kg/天或1 mg/kg/天至约50mg/kg/天;有时,剂量可以甚至更高。应当理解,本领域技术人员(例如,医生或药剂师)可基于特定患者、制剂和/或疾病的状况方便地调整这些特定剂量。

[0167] 医疗用途和治疗方法

[0168] 另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症的药物方面的用途。

[0169] 例如,这种疾病或病症可以是自身免疫性疾病,例如,其可包括银屑病和/或关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))。

[0170] 另一方面,本公开提供了用于预防和/或治疗有此需要的受试者的疾病或病症的

方法,其包括向所述受试者施用有效量的本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞,其中所述疾病或病症是与IL-17A的不当表达或功能相关的疾病或病症。例如,所述疾病或病症可以是自身免疫性疾病,例如,其可包括银屑病和/或关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))。

[0171] 另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体和/或细胞,用于预防并且/或者治疗有此需要的受试者的疾病或病症。例如,这种疾病或病症可以是自身免疫性疾病,例如,其可包括银屑病和/或关节炎(例如类风湿性关节炎(RA))。

[0172] 另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白在制备用于确定样品中IL-17A的存在和/或量的试剂中的用途。在一些实施方案中,所述测定在体外进行,诸如在样品分析的体外方法中进行。

[0173] 另一方面,本发明提供了测定样品中IL-17A的存在和/或量的方法,其包括:a)将样品与本公开的抗体或其抗原结合片段或融合蛋白接触;以及b)确定与样品结合的所述抗体、其抗原结合片段或融合蛋白的存在和/或量。在一些实施例中,这种方法是体外方法。

[0174] 另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体或细胞,用于确定样品中IL-17A的存在和/或量。在一些实施方案中,本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体或细胞可存在于试剂盒(诸如检测试剂盒)中,试剂盒可包含其它材料,诸如缓冲液或使用说明书。

[0175] 当本公开的抗体或其抗原结合片段、融合蛋白、分离的一种或多种核酸分子、一种或多种载体或细胞用于确定样品中IL-17A的存在和/或量时。样品通常可以是被怀疑或已知包含或未包含IL-17A或其片段的任何剂/材料/混合物。IL-17A可以是人IL-17A、猴IL-17A和/或小鼠IL-17A。在一些实施方案中,样品是生物样品,例如,样品可包括来自受试者(例如,人或非人受试者)的体液、组织或细胞。样品可被纯化或部分纯化。在一些实施方案中,样品可来自受试者的生活环境,例如来自水、土壤或其它来源。

[0176] 虽然本文已经显示和描述了本公开的优选实施方案,但对于本领域技术人员来说,显然此类实施方案仅仅是作为实例提供的。在不脱离本公开的情况下,本领域技术人员现在将会想到许多变化、改变和替换。应当理解,在实践本公开时,可采用本文所述的本公开的实施方案的各种替代方案。以下权利要求旨在限定本公开的范围,并且由此涵盖这些权利要求及其等同物的范围内的方法和结构。

[0177] 实施例

[0178] 阐述以下实施例是为了向本领域普通技术人员提供如何制造和使用本发明的完整公开和描述,并且不旨在限制发明人认为是他们的发明的范围,也不旨在表示下面的实验是所有或唯一进行的实验。已努力确保所用数字(例如数量、温度等)的准确性,但应该考虑一些实验误差和偏差。除非另有说明,否则份数是重量份,分子量是重均分子量,温度是摄氏度,压力等于或接近大气压。可使用标准缩写,例如bp,一个或多个碱基对;kb,一或数千碱基;pL,一或多皮升;s或sec,一或数秒;min,一或数分钟;h或hr,一或数小时;aa,一个或多个氨基酸;nt,一个或多个核苷酸;i.m.,肌肉内(地);i.p.,腹膜内(地);s.c.,皮下(地);等等。

[0179] 实施例1抗IL-17A单克隆抗体的获得

[0180] 用重组人IL-17A免疫免疫一组BALB/C小鼠。将收获的脾细胞与SP2/0骨髓瘤细胞融合。将50%PEG (Mw1500) 用作融合试剂。在HAT杂交瘤选择培养基中选择衍生的杂交瘤细胞。选择小鼠抗IL-17A单克隆抗体克隆#2P28.3.1进行进一步研究。测序后, 获得了2P28.3.1的VH和VL的氨基酸序列(即, 分别为VH6664和VL6664), 分别如SEQ ID NO:7和SEQ ID NO.8所示。

[0181] 然后将2P28.3.1的VH区与人IgG4恒定区融合, 并将2P28.3.1的VL区与人Igκ恒定区融合, 获得了嵌合抗体PP10759。PP10759的重链(即PP10759H和重链6664)的氨基酸序列是如SEQ ID NO:9所示的, 并且PP10759的轻链(即PP10759L和轻链6664)的氨基酸序列是如SEQ ID NO:10所示的。

[0182] 实施例2抗IL-17A单克隆抗体的人源化

[0183] 抗体中的小鼠序列可在人体内引起不希望的免疫原性。为了最大化抗体中人序列的数量同时保持原始抗体的特异性, 通过使用计算机分析(in silico analyse)匹配界面位置、类似分类的CDR规范位置, 以及去除N-糖基化位点的存在和产生将亲代抗体序列的选定部分与人框架序列融合的多个杂交序列来进行亲代抗体的人源化。

[0184] 从该分析中, 获得了三条人源化轻链和三条人源化重链。所述三条人源化重链的可变区分别称为VH1-3(即VH6665-VH6667), 所述三条人源化轻链的可变区分别称为VL 1-3(即VL6665-VL6667), 如图1所示的。VH6665-VH6667的氨基酸序列分别是如SEQ ID NO:12、SEQ ID NO.15和SEQ ID NO.18所示的; 并且VL6665-VL6667的氨基酸序列分别是如SEQ ID NO:21、SEQ ID NO.24和SEQ ID NO.27所示的。

[0185] 在将三条人源化轻链与三条人源化重链组合后, 通过用各自的人源化VH和VL序列(即VH6665-VH6667和VL6665-VL6667)替换PP10759的VH和VL, 获得9种人源化抗体。如此获得的9种人源化抗体被命名为PP10760-PP10768。

[0186] 人工合成了PP10759-PP10768的序列并且为了准确起见, 对其进行了测序, 并分别将其重组克隆到载体pCDNA3.1中。将载体转染入HEK293细胞以进行瞬时表达, 然后在合适的条件下培养细胞以表达抗体。从细胞中收获9种人源化抗体PP10760-PP10768和嵌合抗体PP10759, 然后通过蛋白A纯化来进行纯化。

[0187] 抗体的氨基酸序列如表1所示:

[0188]

抗体	VH	SEQ ID No.	VL	SEQ ID No.
PP10759	VH6664	SEQ ID No.7	VL6664	SEQ ID No.8
PP10760	VH6665	SEQ ID No.12	VL6665	SEQ ID No.21
PP10761	VH6665	SEQ ID No.12	VL6666	SEQ ID No.24
PP10762	VH6665	SEQ ID No.12	VL6667	SEQ ID No.27
PP10763	VH6666	SEQ ID No.15	VL6665	SEQ ID No.21
PP10764	VH6666	SEQ ID No.15	VL6666	SEQ ID No.24
PP10765	VH6666	SEQ ID No.15	VL6667	SEQ ID No.27
PP10766	VH6667	SEQ ID No.18	VL6665	SEQ ID No.21
PP10767	VH6667	SEQ ID No.18	VL6666	SEQ ID No.24
PP10768	VH6667	SEQ ID No.18	VL6667	SEQ ID No.27

[0189] 表1

[0190] 实施例3单克隆抗体的人化性 (humanness) 的评估

[0191] 通过计算其人化性评分来评价单克隆抗体人源化后的人化性。实施例2中获得的亲本抗体和9种人源化抗体的人化性评分如表2.1和2.2所示。

[0192] 按照Gao, S.H., Huang, K., Tu, H. 和Adler, A.S. 2013 Monoclonal antibody humanness score and its applications. BMC Biotechnology, 13:55的方法, 对于重链, 79或更高的评分表示看起来像人样; 对于κ轻链, 86或更高的评分表示看起来像人样。如表2.1和表2.2的结果所示, 9种人源化抗体应被视为类人抗体。

[0193]	VH	全长(框架 + CDR) 截断值 = 79	仅框架 截断值 = 84
	VH6664	74.5	77.4
	VH6665	86.4	92.2
	VH6666	84.7	89.9
	VH6667	84.0	91.9

[0194] 表2.1

[0195]	VL	全长(框架 + CDR) 截断值 = 86	仅框架 截断值 = 90
	VL6664	71.5	78.3
	VL6665	85.1	94.5
	VL6666	84.4	93.3
	VL6667	83.0	91.6

[0196] 表2.2

[0197] 实施例4抗体的结合活性

[0198] 为了评价实施例1和2中获得的抗体的结合亲和力和特异性, 进行了多重结合测定。

[0199] 4.1通过Octet进行的亲和力测量

[0200] 使用Octet方法 (Fortebio Octet®), 在25℃下用Octet Red96评估嵌合亲本抗体和9种人源化抗体 (即PP10759-PP10768)。将这些抗体以10μg/mL的浓度捕获在抗人Fc (AHC) 生物传感器上。然后将装载的生物传感器浸入抗原的稀释液 (人IL-17A (R&D Systems), 500nM 开始, 1:3下降, 7点) 中。使用单价 (1:1) 模型计算动力学常数。结果如表3和图2A-图2C所示。在图2A中, 图I、图II、图III和图IV分别显示了PP10759、PP10760、PP10761和PP10762的结果。在图2B中, 图I、II、III和IV分别显示了PP10763、PP10764、PP10765和PP10766的结果。在图2B中, 图I和图II分别显示了PP10767和PP10768的结果。可以看出, 抗体 (即PP10759-

PP10768) 以高亲和力结合 IL-17A。并且这种亲和力与 Secukinuma 的 K_D (其为 $3.7 \times 10^{-10} \text{M}$) 相当或更高。Secukinuma 是由 Novartis 生产的与 IL-17A 结合的人 IgG1 κ 单克隆抗体。

[0201]	抗体名称	K_D (M)	K_{on} (1/Ms)	K_{dis} (1/s)	完全 X*2	完全 R*2
	PP10759	1.1E-09	4.8E+05	5.3E-04	0.0040	0.9983
	PP10760	3.10E-10	4.9E+05	1.5E-04	0.0049	0.9984
	PP10761	<1.0E-12	4.0E+05	<1.0E-07	0.0104	0.9968
	PP10762	<1.0E-12	4.4E+05	<1.0E-07	0.0070	0.998
[0202]	PP10763	3.6E-10	4.6E+05	1.6E-04	0.0042	0.9989
	PP10764	<1.0E-12	4.5E+05	<1.0E-07	0.0040	0.9989
	PP10765	1.3E-10	5.0E+05	6.6E-05	0.0049	0.9985
	PP10766	<1.0E-12	3.5E+05	<1.0E-07	0.0033	0.9989
	PP10767	<1.0E-12	3.6E+05	<1.0E-07	0.0038	0.9989
	PP10768	<1.0E-12	3.7E+05	<1.0E-07	0.0061	0.9983

[0203] 表3

[0204] 4.2人源化抗体与人IL-17A的结合 (ELISA)

[0205] 用1 $\mu\text{g/mL}$ IL-17抗原 (人IL-17A) (R&D Systems) 涂覆ELISA板,并在4 $^{\circ}\text{C}$ 下于黑暗中孵育过夜。然后用10mM, pH 7.4PBS/Tween (0.05%) 洗涤一次,用含2%BSA的PBST封闭1小时,并在室温下孵育1小时。将抗体PP10759-PP10768以5倍的增量稀释以用于总共11个数据点,并加入到ELISA孔中,在室温下孵育1小时。平板用PBS洗涤三次,然后用缀合有HRP的山羊抗人IgG抗体孵育1小时。用PBS洗涤该板三次。将HRP底物TMB加入每个孔中,在室温下显色5分钟。向每个孔中加入等量的0.1N HCl溶液以终止反应。通过POLARstar Omega (BMG Labtech) 收集原始OD₄₅₀数据。除此以外,还将hFc同位素当作对照。结果如表4和图3所示可以看出,抗体 (即PP10759-PP10768) 以高亲和力结合人IL-17A。

[0206]	抗体名称	EC50 (ng/mL)
	PP10759	5.83
	PP10760	9.44
	PP10761	8.72
	PP10762	8.26
	PP10763	7.28
	PP10764	6.61
	PP10765	7.61
	PP10766	7.35
	PP10767	7.71

PP10768	7.67
---------	------

[0207] 表4

[0208] 4.3抗体对猴IL-17A的结合特异性

[0209] 通常希望治疗性抗体也与模型动物的抗原结合,以促进临床前研究。因此,评估了抗体PP10759-PP10768结合小鼠IL-17A或食蟹猴IL17A的能力。除了用猴IL-17A或小鼠IL-17A替代IL-17抗原(人IL17A)之外,评估方法与4.2中所述的方法相同。

[0210] 猴IL-17A和小鼠IL-17A的ELISA数据如图4所示。在图4中,I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII和IX分别显示了抗体PP10759、PP10760、PP10761、PP10762、PP10763、PP10764、PP10765、PP10766、PP10767和PP10768对食蟹猴IL17A的亲合力。并且X显示了抗体PP10759-PP10768对小鼠IL-17A的亲合力。可以看出,抗体PP10759-PP10768以高亲合力结合食蟹猴IL17A,但它们不结合小鼠IL-17A。

[0211] 实施例5抗体阻断人IL-17A与人IL-17R之间相互作用的能力

[0212] 将重组人IL-17RA或重组人IL-17RC (1 μ g/ml) 涂覆在平板上,在4℃下于黑暗中过夜,然后用2%BSA在室温下封闭1小时,以减少非特异性结合。在室温下,将预先与人IL-17A(终浓度为0.1 μ g/ml)混合的抗体PP10759-PP10768 (1 μ g/ml) 加入到ELISA孔中,进行1小时。将平板用PBS洗涤三次,然后用抗IL17A多克隆抗体-生物素R&D Systems) 孵育1小时,然后用SAV-HRP孵育。将平板用PBS洗涤三次。将HRP底物TMB加入每个孔中,在室温下显色5分钟。向每个孔中加入等量的0.1N HCl溶液以终止反应。通过来自BMG Labtech的OLARstar Omega收集原始OD₄₅₀数据。

[0213] 结果如表5所示。可以看出,抗体PP10759-PP10768可以有效地阻断IL-17A与IL-17RA以及IL-17A与IL-17RC之间的相互作用。

[0214]

封闭抗体	IL-17A/IL-17RA OD ₄₅₀	阻断%	IL-17A/IL-17RC OD ₄₅₀	阻断%
PP10759	0.0872	99.54	0.0888	95.23
PP10760	0.109	97.8	0.0762	98.04
PP10761	0.0851	99.66	0.0688	99.81
PP10762	0.0846	99.6	0.0701	99.5
PP10763	0.1045	90.94	0.0721	98.92
PP10764	0.1263	96.49	0.0725	98.92
PP10765	0.2133	89.86	0.088	95.23

[0215]	PP10766	0.1475	94.88	0.0682	99.95
	PP10767	0.1055	98.07	0.0684	99.9
	PP10768	0.0869	99.49	0.0685	99.88
	正常人 IgG	1.3934	0	0.4873	0
	(-)人 IL17A	0.0798	0	0.068	0

[0216] 表5

[0217] 实施例6人源化IL-17A抗体在体内中和人IL-17A

[0218] 在C57BL/6小鼠中进行本研究。实验动物接受人IL-17A的皮下(SC)注射,在注射人IL-17A前1小时,以多剂量向小鼠静脉内施用人源化IL-17A抗体。在IL-17A施用后2小时,采集每只动物的血液样品,并通过ELISA测定血浆中CXCL1(KC)趋化因子的水平。将人IgG4用作同种型对照抗体。使用单向方差分析对治疗之间的KC趋化因子水平进行成对比较。

[0219] 结果如图5所示。可以看出,向C57BL/6小鼠施用人IL-17A升高了小鼠中的血浆KC水平。与同型对照治疗相比,人源化IL-17A抗体能够显著减少人IL-17A诱导的KC在血浆中的分泌。这些结果表明人源化IL-17A抗体能够在体内有效中和人IL-17A。

[0220] 实施例7人源化IL-17A抗体减轻了猴子的关节炎症状

[0221] 本研究在患有胶原诱导的关节炎(CIA)的成年食蟹猴(雄性和雌性,2.5-4.5kg)中进行。简言之,由牛II型胶原诱导关节炎。将牛II型胶原溶液(4mg/mL)溶解在0.1M乙酸中,并在等体积的完全弗氏佐剂(CFA)中进行乳化。在麻醉状态下,用2mL乳剂在背部对每只猴子进行皮内免疫。3周后,这些动物以同样的方式接受了牛II型胶原的第二次免疫。然后每周皮下施用人源化IL-17A抗体。每周在所有实验性CIA动物中评估临床关节炎指数(包括关节肿胀、红斑、体重减轻和运动障碍在内的疾病症状的系统测量)。

[0222] 结果表明,在用胶原进行第二次免疫后,所有动物都出现了临床关节炎症状,包括关节肿胀、红斑、体重减轻和运动障碍,并且它们的关节炎指数较高(图6)。与对照动物相比,在用人源化IL-17A抗体治疗后,动物的关节炎指数低得多。这些结果表明,人源化IL-17A抗体在缓解患有关节炎的猴的关节炎症状的疗法中是有效的。

[0223] 虽然本文已经显示和描述了本发明的优选实施方案,但对于本领域技术人员来说,显然此类实施方案仅仅是作为实例提供的。本发明不受说明书中提供的具体实例的限制。虽然已经参考前述说明书描述了本发明,但本文中的实施例的描述和示出并不意味着以限制的意义来解释。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员现在将可想到许多变化、改变和替换。此外,应当理解,本发明的所有方面不限于本文阐述的取决于各种条件和变量的具体描述、配置或相对比例。应当理解,在实践本发明时,可以采用本文描述的本发明实施方案的各种替代方案。因此,预期本发明也将涵盖任何此类替换、修改、变化或等同物。下面的权利要求旨在限定本发明的范围,并且这些权利要求及其等同物范围内的方法和结构由此被涵盖。

序列表

<110> 沈为群

谭向阳

刘建宁

<120> 抗IL-17A抗体及其用途

<130> 0073-PA-002CN

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HCDR1

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HCDR2

<400> 2

Ile Asn His Asn Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> HCDR3

<400> 3

Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> LCDR1

<400> 4

Glu Asp Phe Tyr Asp Arg

1 5

<210> 5

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> LCDR2

<400> 5

Gly Ala Thr

1

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> LCDR3

<400> 6

Gln Gln Tyr Trp Ser Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 7

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val

35 40 45

Ala Ile Ile Asn His Asn Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu His

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 8

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Pro Ser Phe Ser Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asp Arg
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Asp Ile Asn Ser Leu Gln Thr
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Val Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 9

<211> 470

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
 1 5 10 15
 Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 20 25 30
 Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala
 35 40 45
 Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr
 50 55 60
 Pro Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val Ala Ile Ile Asn His Asn Gly Gly

65	70	75	80
Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg			
	85	90	95
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu His Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser			
	100	105	110
Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly			
	115	120	125
Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser			
	130	135	140
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg			
145	150	155	160
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	165	170	175
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
	180	185	190
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
	195	200	205
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr			
	210	215	220
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
225	230	235	240
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
	245	250	255
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	260	265	270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	275	280	285
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	290	295	300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe			
305	310	315	320
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
	325	330	335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu			
	340	345	350
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
	355	360	365
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys			
	370	375	380

Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
385							390				395				400
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
							405				410				415
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
							420				425				430
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
							435								440
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
							445								450
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly										
465							470								
<210> 10															
<211> 234															
<212> PRT															
<213> Mus musculus															
<400> 10															
Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1					5				10					15	
Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Phe	Ser
					20				25					30	
Val	Ser	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Glu	Asp
					35				40					45	
Ile	Tyr	Asp	Arg	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Asn	Ala	Pro
					50				55					60	
Arg	Leu	Leu	Ile	Ser	Gly	Ala	Thr	Ser	Leu	Glu	Thr	Gly	Ile	Pro	Ser
65					70				75					80	
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Lys	Asp	Tyr	Thr	Leu	Asp	Ile	Asn
					85				90					95	
Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Trp
					100				105					110	
Ser	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
					115				120					125	
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
					130				135					140	
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
145					150				155					160	
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser
					165				170					175	

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230
 <210> 11
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 重链 6665; PP10760 H; PP10761 H; PP10762 H
 <400> 11
 Met Asp Pro Lys Gly Ser Leu Ser Trp Arg Ile Leu Leu Phe Leu Ser
 1 5 10 15
 Leu Ala Phe Glu Leu Ser Tyr Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 20 25 30
 Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 35 40 45
 Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 50 55 60
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val Ser Ile Ile Asn His Asn Gly Gly
 65 70 75 80
 Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 85 90 95
 Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 100 105 110
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 145 150 155 160
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 165 170 175
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 180 185 190

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
195	200	205
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
210	215	220
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
225	230	235
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
245	250	255
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
260	265	270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
275	280	285
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
290	295	300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
305	310	315
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
325	330	335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
340	345	350
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
355	360	365
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
370	375	380
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
385	390	395
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
405	410	415
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
420	425	430
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
435	440	445
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
450	455	460
Leu Ser Leu Ser Leu Gly		
465	470	
<210> 12		
<211> 120		
<212> PRT		

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VH6665; PP10760 VH; PP10761 VH; PP10762 VH

<400> 12

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr
			20					25					30		
Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Leu	Val
			35				40					45			
Ser	Ile	Ile	Asn	His	Asn	Gly	Gly	Ser	Thr	Phe	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val
			50				55				60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90				95	
Ala	Arg	Asp	Pro	Arg	His	Asp	Gly	Tyr	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115				120								

<210> 13

<211> 1416

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 重链 6665 核苷酸; PP10760 H 核苷酸; PP10761 H 核苷酸; PP10762 H 核苷酸

<400> 13

```

atggaccccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag 60
ctgagctacg gcgaggtgca actggtggag tccggcggag gtctggtgca gcccggtggc 120
agcctgaggc tgtcatgcgc agccagcggc ttcaccttca gcacctacgg catgagctgg 180
gtgaggcagg caccggcaa gggcctggag ctggtgagca tcatcaacca caacggcggc 240
agtacctttt accccgacag cgtgaagggc aggttcacca tcagcaggga caacagcaag 300
aacaccctgt acctgcagat gaactcactg agggcagagg acaccgccgt gtactactgc 360
gccagggacc ccaggcatga cgggtacttc ttcgactact ggggccaggg caccctggtg 420
acagttagct ctgctagcac caagggccccc agcgtgtttc ctctcgctcc ctgcagccgg 480
agcacatccg agagcaccgc tgctctgggc tgtctcgtga aggactactt ccctgaaccc 540
gtcaccgtca gctggaatag cggcgccctg acatccggcg tccacacatt ccccgctgtc 600
ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc tccgtggtca ccgtgcctag cagcagcctg 660

```

ggaacaaaga cctacacctg caacgtggac cataagccct ccaacaccaa ggtggacaag 720
 cgggtggaat ccaagtatgg acccccctgt cctccttgcc ctgctcctga atttctcgga 780
 ggccccctccg tcttctctgtt tccccccaag cccaaggaca ccctgatgat ctcccgaca 840
 cccgaagtca cctgcgtcgt ggtggatgtc agccaggaag atccccgaggt gcagttcaac 900
 tggtagctgg acggagtgga ggtgcataac gccaaaacca agcccaggga agagcagttc 960
 aacagcacct atcgggtcgt gtccgtgctc accgtcctgc atcaggattg gctcaacggc 1020
 aaggagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggctgcctt cctccatcga gaagaccatc 1080
 tccaaggcta agggccaacc tcgggagccc caagtgtata ccctccctcc cagccaggag 1140
 gagatgacca agaatacaagt gagcctgacc tgctctgtga agggatttta cccctccgac 1200
 atcgctgtgg aatgggaaaag caatggccaa cctgagaaca actacaagac cacaccccc 1260
 gtgctggact ccgatggtc cttcttcttg tacagcagge tgaccgtgga caaatcccg 1320
 tggcaagagg gaaacgtgtt cagctgtctc gtgatgcacg aggtctctca caaccactac 1380
 acccagaaga gcctctccct gagcctcggc tagtaa 1416

<210> 14

<211> 470

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 重链 6666; PP10763 H; PP10764 H; PP10765 H

<400> 14

Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
1				5					10					15	
Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly
				20					25					30	
Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
				35				40					45		
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
				50				55					60		
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Asn	His	Asn	Gly	Gly
65				70					75					80	
Ser	Thr	Phe	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg
				85					90					95	
Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala
				100				105					110		
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Pro	Arg	His	Asp	Gly
				115				120					125		
Tyr	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
				130				135					140		
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg

145	150	155	160
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	165	170	175
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
	180	185	190
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
	195	200	205
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr			
	210	215	220
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
225	230	235	240
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
	245	250	255
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	260	265	270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	275	280	285
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	290	295	300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe			
305	310	315	320
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
	325	330	335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu			
	340	345	350
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
	355	360	365
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys			
	370	375	380
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
385	390	395	400
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
	405	410	415
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
	420	425	430
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser			
	435	440	445
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
	450	455	460

Leu Ser Leu Ser Leu Gly

465 470

<210> 15

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> VH6666; PP10763 VH; PP10764 VH; PP10765 VH

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val

35 40 45

Ala Ile Ile Asn His Asn Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 16

<211> 1416

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 重链 6666 核苷酸; PP10763 H 核苷酸; PP10764 H

核苷酸; PP10765 H 核苷酸

<400> 16

atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag 60
ctgagctacg gcgaggtgca actggtggag tccggcggag gtctggtgca gcccggtggc 120
agcctgaggc tgtcatgcgc agccagcggc ttcacctca gcacctacgg catgagctgg 180
gtgaggcagg caccgcgcaa gggcctggag ctggtggcaa tcatcaacca caacggcggc 240
agtacctttt accccgacag cgtgaagggc aggttcaccg tcagcaggga caacagcaag 300
aacaccctgt acctgcagat gaactcactg agggcagagg acaccgccgt gtactactgc 360

gccagggacc ccaggcatga cgggtacttc ttcgactact ggggccaggg caccctggtg 420
 acagtttagct ctgctagcac caagggcccc agcgtgtttc ctctcgctcc ctgcagccgg 480
 agcacatccg agagcaccgc tgctctgggc tgtctcgtga aggactactt ccctgaaccc 540
 gtcaccgtca gctggaatag cggcgccctg acatccggcg tccacacatt ccccgctgtc 600
 ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc tccgtgggtca ccgtgcctag cagcagcctg 660
 ggaacaaaga cctacacctg caacgtggac cataagccct ccaacaccaa ggtggacaag 720
 cgggtggaat ccaagtatgg acccccctgt cctccttgcc ctgctcctga atttctcgga 780
 ggccccctccg tcttctgtt tcccccaag cccaaggaca ccctgatgat ctcccgga 840
 cccgaagtca cctgcgtcgt ggtggatgtc agccaggaag atcccgaggt gcagttcaac 900
 tggtacgtgg acggagtgga ggtgcataac gccaaaacca agcccaggga agagcagttc 960
 aacagcacct atcgggtcgt gtccgtgtc accgtcctgc atcaggattg gctcaacggc 1020
 aaggagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggctgcct cctccatga gaagaccatc 1080
 tccaaggcta agggccaacc tcgggagccc caagtgtata cctcctcc cagccaggag 1140
 gagatgacca agaatcaagt gagcctgacc tgctcgtga agggatttta cccctccgac 1200
 atcgtgtgg aatgggaaag caatggccaa cctgagaaca actacaagac cacaccccc 1260
 gtgctggact ccgatggctc cttcttctg tacagcaggc tgaccgtgga caaatcccg 1320
 tggcaagagg gaaacgtgtt cagctgtcct gtgatgcac aggctctcca caaccactac 1380
 acccagaaga gcctctccct gagcctcggc tagtaa 1416

<210> 17

<211> 470

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> heavy chain 6667; PP10766 H; PP10767 H; PP10768 H

<400> 17

Met	Asp	Pro	Lys	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Arg	Ile	Leu	Leu	Phe	Leu	Ser
1				5					10					15	
Leu	Ala	Phe	Glu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly
			20					25					30		
Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
			35				40						45		
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
			50				55				60				
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Leu	Val	Ala	Ile	Ile	Asn	His	Asn	Gly	Gly
65				70					75					80	
Ser	Thr	Phe	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg
				85					90				95		
Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala
			100					105					110		

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg His Asp Gly		
115	120	125
Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
130	135	140
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
145	150	155
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	165	170
		175
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
	180	185
		190
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
	195	200
		205
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
	210	215
		220
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
225	230	235
		240
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
	245	250
		255
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	260	265
		270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	275	280
		285
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
290	295	300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
305	310	315
		320
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	325	330
		335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	340	345
		350
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	355	360
		365
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
	370	375
		380
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
385	390	395
		400
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	405	410
		415
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		

atggacccca agggcagcct gagctggaga atcctgctgt tcctgagcct ggccttcgag 60

ctgagctacg gcgagggtgca actggtggag tccggcggag gtgtggtgca gcccgggtcgc 120
 agcctgaggc tgtcatgcgc agccagcggc ttcaccttca gcacctacgg catgagctgg 180
 gtgaggcagg caccggaac gggcctggag ctggtggcaa tcatcaacca caacggcggc 240
 agtacctttt accccgacag cgtgaagggc aggttcacca tcagcaggga caacagcaag 300
 aacaccctgt acctgcagat gaactcactg agggcagagg acaccgccgt gtactactgc 360
 gccagggacc ccaggcatga cgggtacttc ttcgactact ggggccaggg caccctggtg 420
 acagttagct ctgctagcac caagggtccc agcgtgtttc ctctcgctcc ctgcagccgg 480
 agcacatccg agagcaccgc tgctctgggc tgtctcgtga aggactactt ccctgaaccc 540
 gtcaccgtca gctggaatag cggcgccctg acatccggcg tccacacatt ccccgctgtc 600
 ctgcagagca gcggcctgta cagcctgagc tccgtggtca ccgtgcctag cagcagcctg 660
 ggaacaaaga cctacacctg caacgtggac cataagccct ccaacaccaa ggtggacaag 720
 cgggtggaat ccaagtatgg accccctgt cctccttgcc ctgctcctga atttctcgga 780
 ggccccctcg tcttctgtt tcccccaag cccaaggaca cctgatgat ctcccgaca 840
 cccgaagtca cctgcgtcgt ggtggatgtc agccaggaag atcccgaggt gcagttcaac 900
 tggtacgtgg acggagtgga ggtgcataac gccaaaacca agcccaggga agagcagttc 960
 aacagcacct atcgggtcgt gtccgtgtc accgtcctgc atcaggattg gctcaacggc 1020
 aaggagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggcctgcct cctccatcga gaagaccatc 1080
 tccaaggcta agggccaacc tcgggagccc caagtgtata ccctccctcc cagccaggag 1140
 gagatgacca agaatacaagt gagcctgacc tgctcgtga agggatttta cccctccgac 1200
 atcgctgtgg aatgggaaag caatggccaa cctgagaaca actacaagac cacaccccc 1260
 gtgctggact ccgatggctc cttcttctg tacagcaggc tgaccgtgga caaatcccg 1320
 tggcaagagg gaaacgtgtt cagctgtcc gtgatgcac aggctctcca caaccactac 1380
 acccagaaga gcctctccct gagcctcggc tagtaa 1416

<210> 20

<211> 234

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 轻链 6665; PP10760 L; PP10763 L; PP10766 L

<400> 20

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp

35 40 45

Ile Tyr Asp Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

50 55 60

Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser

65	70	75	80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser			
	85	90	95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp			
	100	105	110
Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
	115	120	125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	130	135	140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	165	170	175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	180	185	190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	195	200	205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	210	215	220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230		
<210> 21			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> VL6665; PP10760 VL; PP10763 VL; PP10766 VL			
<400> 21			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asp Arg			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Val Pro Trp			

85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	
<210> 22		
<211> 705		
<212> DNA		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 轻链 6665 核苷酸; PP10760 L 核苷酸; PP10763 L		
核苷酸; PP10766 L 核苷酸		
<400> 22		
atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga 60		
gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagggtgacc 120		
atcacctgcc aggcctccga ggacatctac gacaggctgg cctggtatca gcagaagccc 180		
ggcaaggccc ccaaacttct gatctcaggg gccaccagct tggagaccgg cgtgcctagc 240		
aggttcagcg gcagcggtag tggcaccgac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc 300		
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tattggagcg tgccatggac cttcggtggc 360		
ggaactaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccctccc 420		
agcgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caatttctac 480		
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 540		
gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600		
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccaggga 660		
ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 705		
<210> 23		
<211> 234		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 轻链 6666; PP10761 L; PP10764 L; PP10767 L		
<400> 23		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1 5 10 15		
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser		
20 25 30		
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp		
35 40 45		
Ile Tyr Asp Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro		
50 55 60		
Lys Leu Leu Ile Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser		

65	70	75	80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser			
	85	90	95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp			
	100	105	110
Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
	115	120	125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	130	135	140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	165	170	175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	180	185	190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	195	200	205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	210	215	220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230		
<210> 24			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> VL6666; PP10761 VL; PP10764 VL; PP10767 VL			
<400> 24			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asp Arg			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Val Pro Trp			

85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	
<210> 25		
<211> 705		
<212> DNA		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 轻链 6666 核苷酸; PP10761 L 核苷酸; PP10764 L		
核苷酸; PP10767 L 核苷酸		
<400> 25		
atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga 60		
gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagggtgacc 120		
atcacctgcc aggcctccga ggacatctac gacaggctgg cctggtatca gcagaagccc 180		
ggcaaggccc ccaaacttct gatctcaggg gccaccagct tggagaccgg cgtgcctagc 240		
aggttcagcg gcagcggtag tggcaaggac tacaccttca ccatcagctc cctgcagccc 300		
gaggatatcg ccacctacta ctgccagcag tattggagcg tgccatggac cttcggtggc 360		
ggaactaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccctccc 420		
agcgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 480		
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 540		
gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600		
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccaggga 660		
ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 705		
<210> 26		
<211> 234		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 轻链 6667; PP10762 L; PP10765 L; PP10768 L		
<400> 26		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1 5 10 15		
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser		
20 25 30		
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp		
35 40 45		
Ile Tyr Asp Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro		
50 55 60		
Asn Leu Leu Val Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser		

65	70	75	80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser			
	85	90	95
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp			
	100	105	110
Ser Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg			
	115	120	125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	130	135	140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
145	150	155	160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	165	170	175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	180	185	190
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys			
	195	200	205
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro			
	210	215	220
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
225	230		
<210> 27			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> VL6667; PP10762 VL; PP10765 VL; PP10768 VL			
<400> 27			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asp Arg			
	20	25	30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Val			
	35	40	45
Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Val Pro Trp			

	85		90		95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys					
100			105		
<210> 28					
<211> 705					
<212> DNA					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 轻链 6667 核苷酸; PP10762 L 核苷酸; PP10765 L					
核苷酸; PP10768 L 核苷酸					
<400> 28					
atggagaccg acaccctgct gctctgggtg ctgctgctct gggtgcccgg ctccaccgga 60					
gacatccaga tgaccagag cccagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga cagggtgacc 120					
atcacctgca gggcctccga ggacatctac gacaggctgg cctggtatca gcagaagccc 180					
ggcaaggccc ccaatcttct ggtctcaggg gccaccagct tggagagcgg cgtgcctagc 240					
aggttcagcg gcagcggtag tggcaaggac tacaccctca ccatcagctc cctgcagccc 300					
gaggatttcg ccacctacta ctgccagcag tattggagcg tgccatggac cttcggtggc 360					
ggaactaagg tggagatcaa gcggaccgtg gccgccccca gcgtgttcat cttccctccc 420					
agcgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 480					
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 540					
gagagcgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600					
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccaggga 660					
ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gctaa 705					

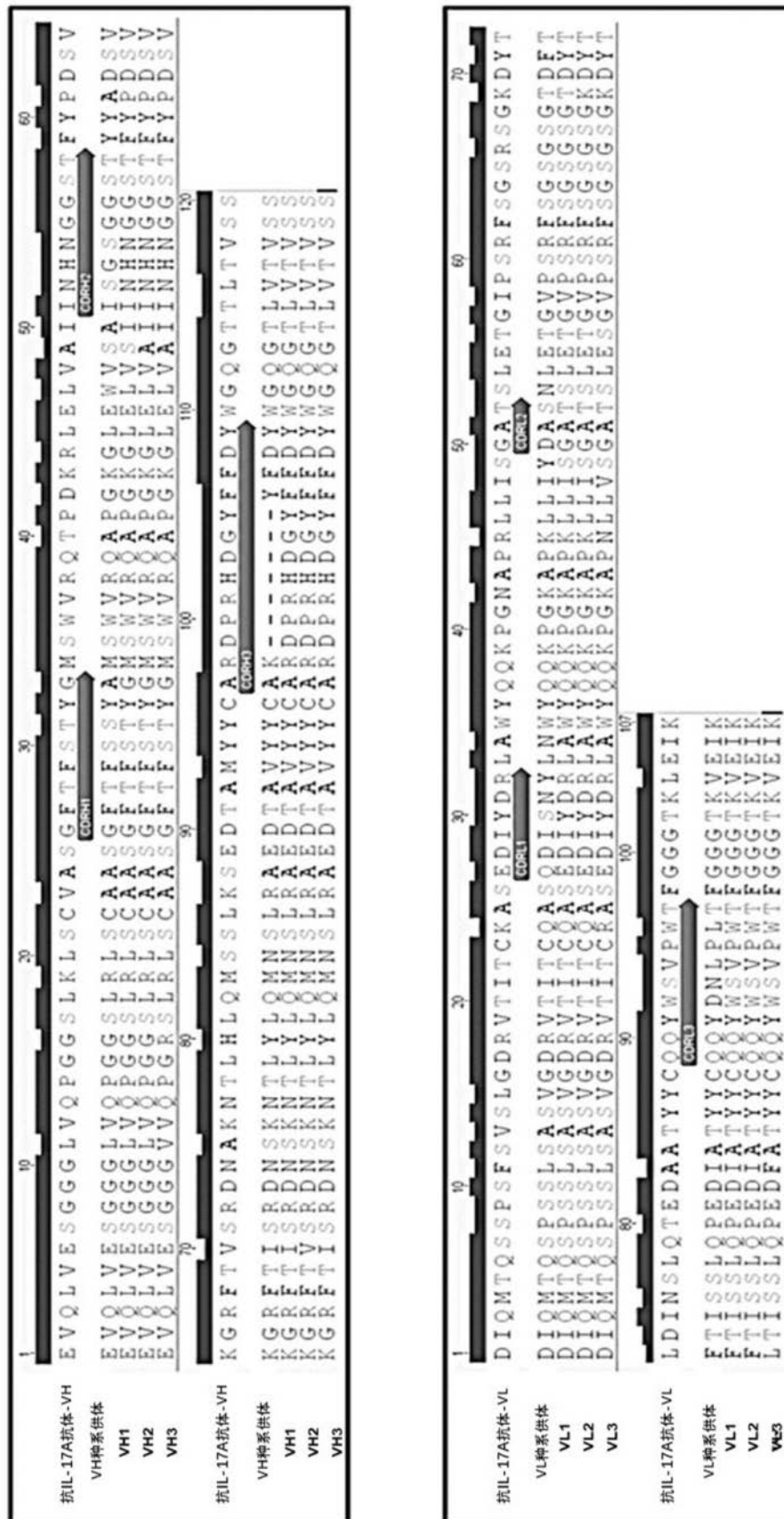


图1

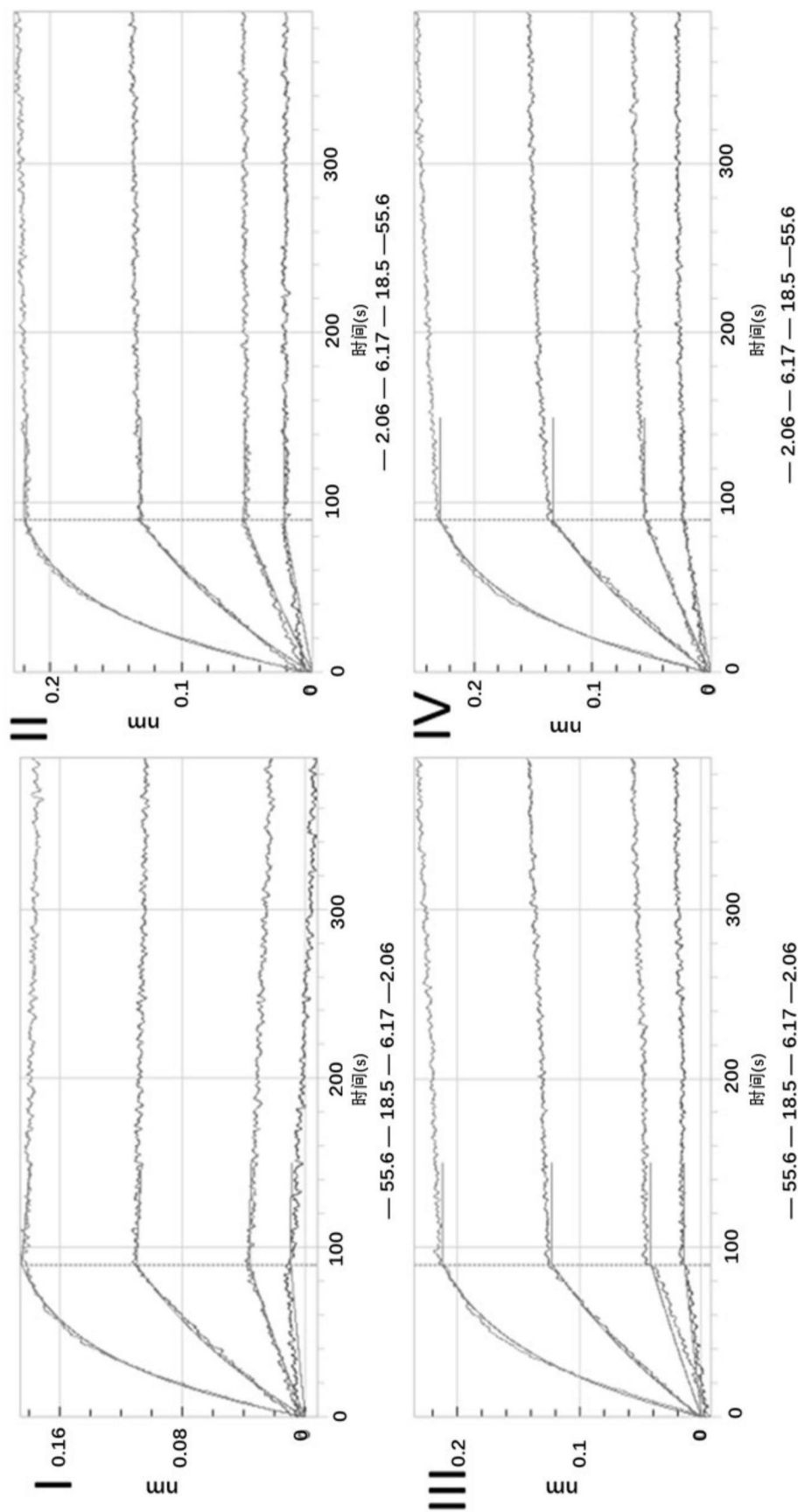


图2A

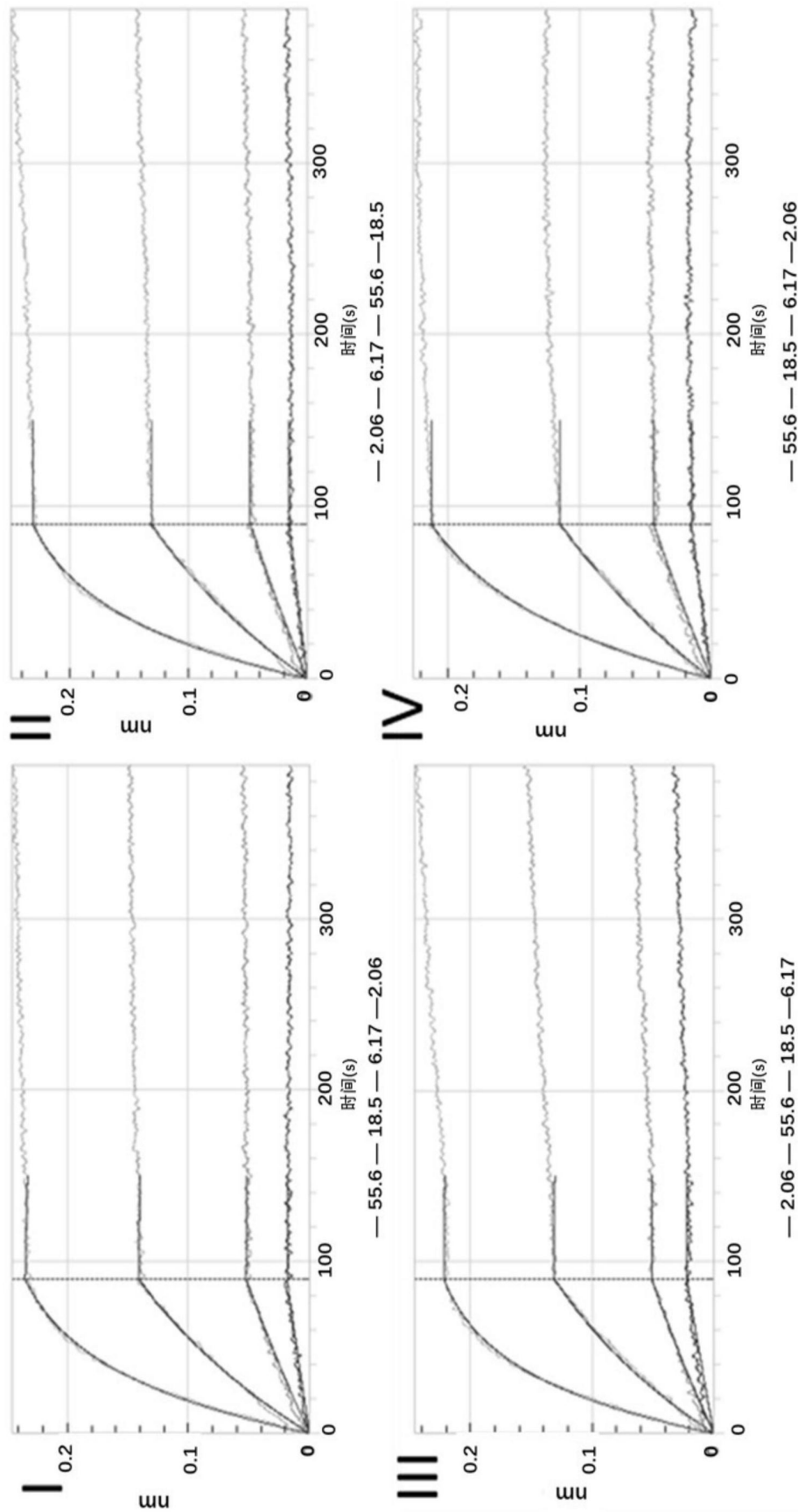


图2B

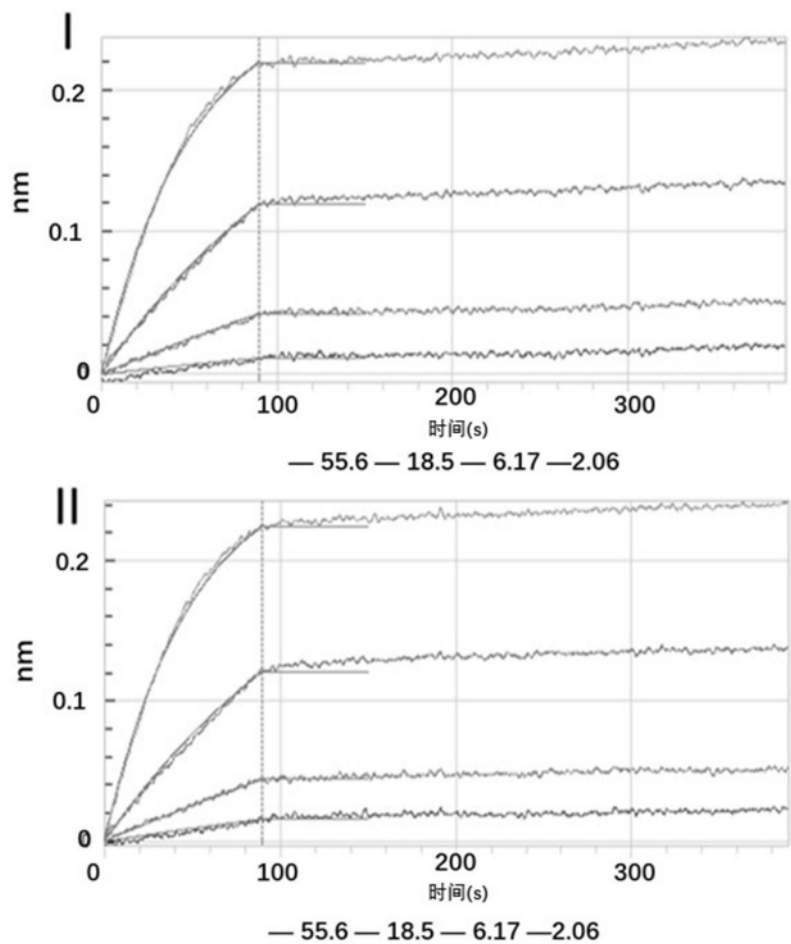


图2C

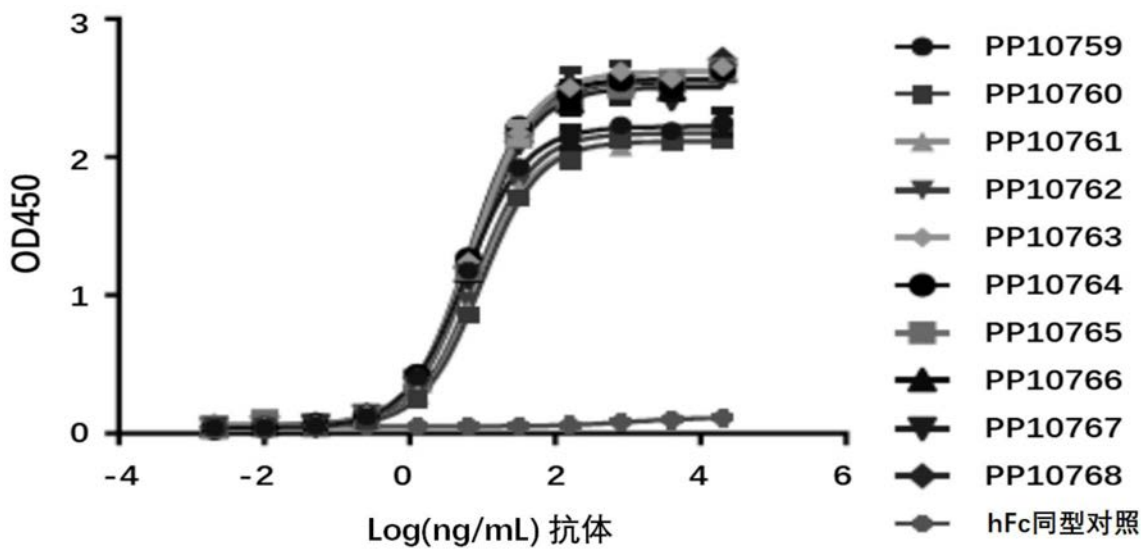


图3

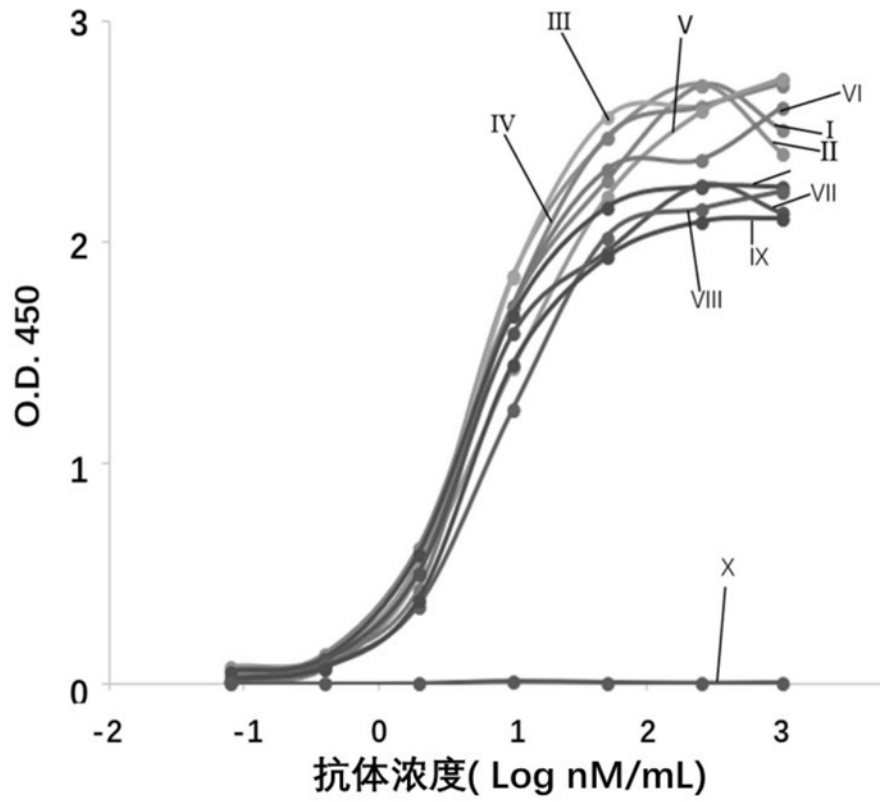


图4

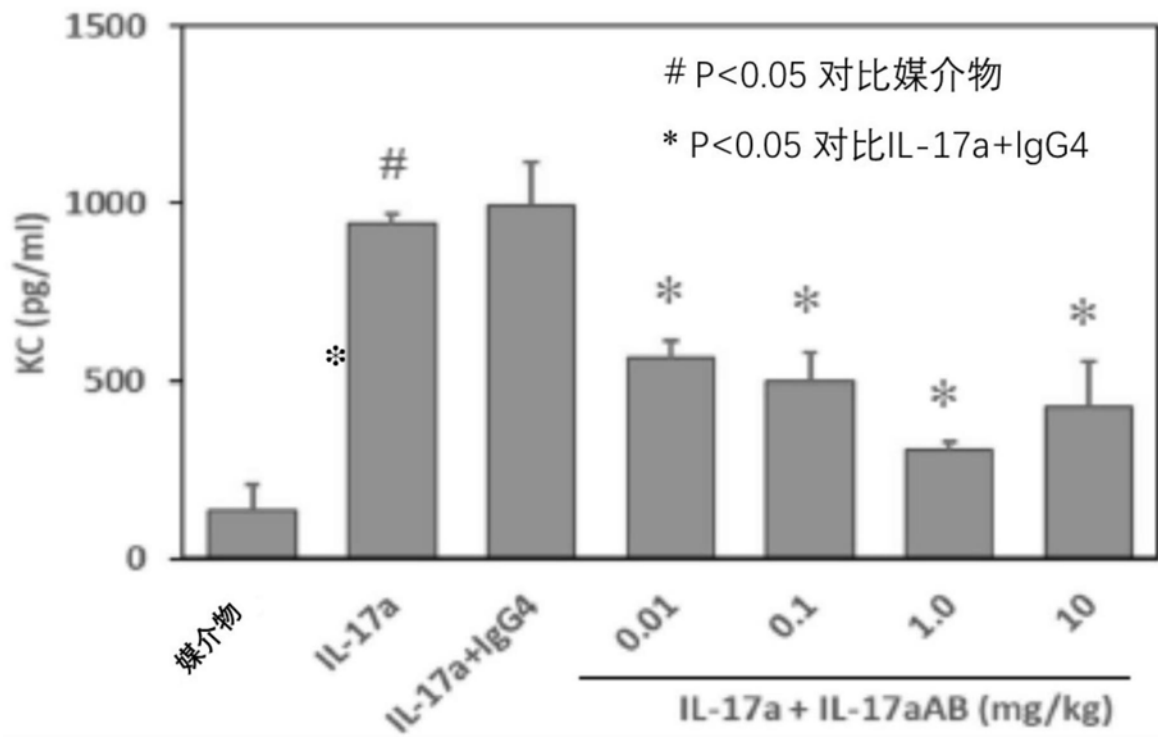


图5

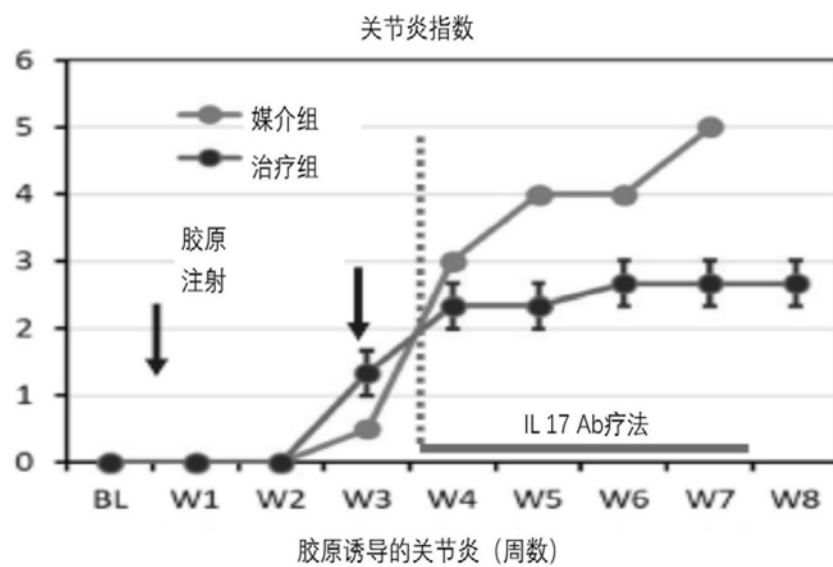


图6